УДК 619:616.98:578.82.2+619:615.3

Гаффаров Х.З., Иванов А.В., Ефимова М.А., Дуплева Л.Ш., Яруллин А.И., Москвичев О.В.
(ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИВИВОЧНОЙ ДОЗЫ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАРВОВИРУСНОЙ, РЕОВИРУСНОЙ, ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ТИПА I ИНФЕКЦИЙ И ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ - БОЛЕЗНИ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ключевые слова: ассоциированная вакцина, прививочная доза, иммунитет

Введение

Современные промышленные технологии содержания сельскохозяйственных животных требуют комплексного подхода к профилактике массовых инфекционных болезней животных. Желудочно-кишечные, респираторные инфекции молодняка и патология органов воспроизводства взрослого поголовья скота по-прежнему остаются важнейшей проблемой животноводства [1, 2, 3].

Возбудителями этих инфекций в большинстве случаев являются герпесвирус типа I КРС, вирус диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота, респираторно-синцитиальный вирус, парво- и реовирусы [1, 4, 5].

В настоящее время парво- и реовирусная инфекции крупного рогатого скота являются мало изученными в РФ и проявляются в форме желудочно-кишечной, респираторной болезни, а также вызывают патология репродуктивных органов. Большое значение в эпизоотическом процессе при реовирусной инфекции является латенция вируса, а при парвовирусной - способность возбудителя преодолевать плацентарный барьер и вызывать эмбриональную смертность.

По данным серомониторинга, проведенного нами в регионе Среднего Поволжья в 2007-2011 годах, серопозитивность крупного рогатого скота к парвовирусной инфекции составила 47%, к реовирусной инфекции – 24%. Исходя из реальной эпизоотической ситуации и состояния сохранности поголовья скота в крупных современных скотоводческих комплексах, сотрудниками отдела вирусологии ФГБУ «ФЦТРБ – ВНИВИ» была разработана и предложена для внедрения в ветеринарную практику «Ассоциированная вакцина против парвовирусной, реовирусной, герпесвирусной типа I инфекций и вирусной диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота инактивированная эмульсионная».

Известно, что напряженность и длительность иммунитета зависит от количества и качества антигена, а также использования неспецифических стимуляторов иммуногенеза, т.е. адъювантов.

В этой связи, целью наших исследований явилось определение оптимальной прививочной дозы и выбор адъюванта, обеспечивающего получение наиболее иммуногенной вакцины.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные серии ассоциированной вакцины против парвовирусной, реовирусной, герпесвирусной типа I инфекций и вирусной диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота для сравнительных испытаний были изготовлены на основе масляного адъюванта (МА) и гидроокиси алюминия (ГОА).

В производственных условиях, изучение антигенной активности и определение прививочной дозы экспериментальных серий ассоциированных вакцин проводилось на крупном рогатом скоте в одном из хозяйств Республики Татарстан. С этой целью были сформированы, на каждый вариант вакцины, по три группы животных разных возрастных групп по принципу аналога в количестве 45 голов, серонегативных или имеющих низкий уровень антител в отношении парвовируса, реовируса, герпесвируса типа I и ВД-БС крупного рогатого скота.

Вакцинировали три возрастные группы животных: телят 10-20 – дневного воз-

раста, телок случного возраста, глубокостельных коров и нетелей. Для каждой возрастной группы испытывали три соответствующие дозы вакцин. Каждую дозу препарата вводили 5 животным.

Вакцину на основе масляного адъюванта инъецировали, в среднюю треть шеи, двукратно, внутримышечно с интервалом 21-30 дней. Для глубокостельных коров, нетелей и телок случного возраста диапазон доз испытуемого материала был от 1 до 3 см3, для телят 10-20 – дневного возраста – от 0,5 до 2 см3.

Гидроокисьалюминиевую вакцину вводили в среднюю треть шеи, двукратно, подкожно с интервалом 14 дней. Для глубокостельных коров, нетелей и телок случного возраста гидроокисьалюминиевую вакцину применяли в дозах 3, 5, 10 см3, для телят 10-20 – дневного возраста – 2, 3, 5 см3.

В период вакцинации за животными вели клиническое наблюдение. На месте введения вакцины с масляным адъювантом наблюдалось небольшое уплотнение, которое самопроизвольно исчезало через 2-3 недели. Каких-либо других отклонений от физиологической нормы у привитых животных обнаружено не было.

С целью определения динамики нарастания титров специфических антител проводили взятие крови у животных всех групп до вакцинации, после первой и второй вакцинаций. Пробы сыворотки крови исследовали на наличие антител к парвовирусу, реовирусу в РТГА и ИФА, к герпесвирусу типа I и вирусу вирусной диареи в ИФА. Статистически обработанные результаты исследований представлены в таблице 1.

Результаты исследования

Перед проведением опытов нами оценен иммунологический статус подопытных животных. Титры антител в ИФА к парвовирусу, реовирусу, герпесвирусу типа I и к ВД-БС у коров, нетелей и телят до вакцинации были в пределах от 0 до 1:100 и не превышали фоновый уровень, а в РТГА – эти показатели были в пределах от 0 до 1:40 (P<0,001).

В сыворотке крови стельных коров, телок случного периода и телят после первой вакцинации наблюдалось достоверное повышение титров антител ко всем вирусным антигенам в сравнении с исходным (до вакцинации) (P<0,05). Ревакцинация животных после первого введения вакцины, как эмульсионной, так и гидроокисьалюминиевой в различных дозах сопровождалось повышением уровня антител в крови всех экспериментальных групп животных в 1,93±0,65 (P<0,05) раза больше чем после первой.

Из представленных данных в таблице 1 следует, что максимальный уровень антител отмечался в сыворотке крови у глубокостельных коров и нетелей, привитых эмульсионной вакциной в дозе 2 и 3 см3 соответственно, у телят – в дозе 1 и 2 см3 (P<0,05). В то же время, разница уровня специфических антител в сыворотках крови коров и нетелей, вакцинированных дозой 2 см3 и 3 см3, статистически достоверно не отличалась (P>0,05). Показатели прививочной дозы вакцины 1 см3 для телят по иммуногенности также оказалась аналогичной дозе вакцины 2 см3.

При применении сорбированной вакцины наиболее выраженный иммунный ответ ко всем вирусным антигенам получен у коров, нетелей и телок, привитых в дозе 5 см3 и 10 см3, у телят – 3 см3 и 5 см3 (P<0,05). При этом разность в титрах антител, индуцированных дозой 5 см3 и 10 см3 для взрослого поголовья, 3 см3 и 5 см3 для телят была незначительной и составила 112,0±39,1 и 84,0±27,9 (p<0,05) соответственно.

В результате проведенных исследований определена оптимальная прививочная доза ассоциированной вакцины, приготовленной на основе масляного адъюванта, которая для глубокостельных коров, нетелей и телок случного периода составила 2 см3, для телят 10 - 20 дневного возраста – 1см3. Наиболее приемлемой прививочной дозой ассоциированной гидроокисьалюминиевой вакцины для глубокостельных коров, нетелей и телок случного периода оказалась доза 5 см3, для телят 10-20 дневного возраста – 3см3.

Вакцина на основе масляного адъюванта индуцировала выработку в 1,44±0,08 – 1,30±0,05 (P<0,05) раза более высокого уровня специфических антител в крови подопытных животных против парвовируса, реовируса, герпесвируса и ВД-БС, чем гидроокисьалюминиевая.

Выводы

Экспериментальные серии ассоциированных вакцин безвредны, стерильны, обладают антигенной активностью и индуцируют формирование гуморального иммунного ответа у кроликов.

В производственных условиях определены оптимальные прививочные дозы для крупного рогатого скота, которые при соблюдении всех требований, указанных в регламенте по изготовлению и контролю

Таблица 1 – Уровень гуморальных антител против парвовирусной, реовирусной, герпесвирусной типа I инфекций и ВД-БС крупного рогатого скота после второй иммунизации ассоциированной вакциной, приготовленной на основе масляного адъюванта (МА) и депонированной на гидроокиси алюминия (ГОА) (M±m, n=5, p<0,05)

№ п/п	Возрастная группа	Форма вакцины	Доза, см^3	Титр антител^x, M±m					
				к парвовирусу		к реовирусу		к ИРТ	к ВД-БС
				РТГА	ИФА	РТГА	ИФА	ИФА	ИФА
1.	Глубокостельные коровы и нетели	МА	1	672,0±199,2	1280,0±536,6	576,0±71,5	1280,0±219,0	960,0±178,8	720,0±89,4
			2	736,0±262,9	2560,0±438,1	704,0±175,2	2400,0±565,6	2160,0±715,5	1920,0±357,7
			3	832,0±214,6	2880,0±357,7	768,0±143,1	2560,0±438,1	2240,0±657,2	2080,0±536,6
2.	Глубокостельные коровы и нетели	ГОА	3	416,0±107,3	840,0±349,2	384,0±71,5	880,0±219,0	800,0±0,0	680,0±134,1
			5	512,0±87,6	1760,0±438,1	448,0±87,6	1600,0±489,9	1440,0±178,8	1280,0±219,0
			10	592,0±225,5	1920,0±357,7	576,0±71,5	1760,0±438,1	1600,0±489,9	1440,0±178,8
3.	Телки случного периода	МА	1	528,0±125,2	1120,0±219,0	480,0±113,1	1440,0±178,8	1200,0±565,6	1080,0±357,7
			2	704,0±280,5	2400,0±565,6	672,0±199,2	2240,0±657,2	2080,0±536,6	1840,0±657,2
			3	736,0±262,9	2560,0±438,1	704,0±175,2	2320,0±638,7	2240,0±438,1	1920,0±357,7
4.	Телки случного периода	ГОА	3	384,0±71,5	1040,0±268,3	352,0±87,6	1040,0±268,3	880,0±219,0	680,0±279,2
			5	608,0±214,6	1600,0±0,0	480,0±113,1	1520,0±536,6	1520,0±536,6	1360,0±558,5
			10	640,0±195,9	1760,0±438,1	544,0±107,3	1600,0±489,9	1600,0±489,9	1440,0±521,5
5.	Телята 10-20-дневного возраста	МА	0,5	320,0±0,0	1040,0±268,3	304,0±107,3	960,0±178,89	880,0±219,0	800,0±0,0
			1	576,0±71,5	1360,0±268,3	480,0±113,1	1200,0±282,8	1040,0±268,3	960,0±178,8
			2	640,0±0,0	1360,0±558,5	512,0±87,6	1280,0±219,0	1160,0±319,3	1040,0±268,3
6.	Телята 10-20-дневного возраста	ГОА	2	336,0±99,6	640,0±109,5	288,0±35,7	600,0±141,4	480,0±89,4	560,0±109,5
			3	448,0±87,6	1040,0±268,3	352,0±87,6	960,0±178,8	880,0±219,0	720,0±89,4
			5	480,0±113,1	1120,0±219,0	384,0±71,5	1080,0±357,7	960,0±178,8	880,0±219,0

Примечание: х - приведена обратная величина среднеарифметического значения титров антител по группе животных

вакцины, обеспечивают напряженный иммунный ответ после двукратной иммунизации. Сравнительное испытание сорбированной и эмульсионной форм ассоциированных вакцин против парвовирусной, реовирусной, герпесвирусной типа I инфекций и ВД-БС крупного рогатого скота показало, что эмульсионная ассоциированная вакцина на основе масляного адъюванта по антигенной активности значительно превосходит сорбированную.

Резюме: Представлены результаты подбора оптимальной прививочной дозы ассоциированной вакцины против парвовирусной, реовирусной, герпесвирусной типа I инфекций и вирусной диареи-болезни слизистых оболочек для разных возрастных групп крупного рогатого скота. Для повышения иммуногенности вакцины испытаны масляный адъювант и гидроокись алюминия. Максимальный уровень гуморальных антител у подопытных животных регистрировали после второй вакцинации. Установлено, что прививочная доза эмульсионной вакцины составила: для телят 10-20 дневного возраста – 1см3, для глубокостельных коров и нетелей и телок случного периода – 2см3, прививочная доза сорбированной вакцины составила: 3см3 и 5см3 соответственно. Показано, что ассоциированная вакцина на основе масляного адъюванта обеспечивает формирование специфических антител в более высоких титрах в отношении компонентов, составляющих вакцину, чем гидроокисьалюминиевая.

SUMMARY

Presents the results of the selection of the optimal dose of combined vaccine against parvovirus, reovirus, herpesvirus type I infections and viral diarrhea - mucosal disease for cattle in different age groups of cattle. To enhance immunogenicity of combined vaccine tested oil adjuvant and aluminium hydroxide adjuvant. The maximum level of gumoral specific antibody in experimental animals registered after the second vaccination. Found that optimal dose of emulsion vaccine: for calves 10-20 days of age – 1 ml, for heavily pregnant cows and heifers and heifers unpregnant period – 2 ml, optimal dose of combined vaccine with aluminium hydroxide: 3 ml and 5 ml respectively. It is shown that the associated oil based adjuvant combined vaccine provides specific antibodies in the higher titles of the components that make up the vaccine than aluminium hydroxide.

Keywords: associated vaccine, optimal dose, immunity

Литература

1. Гаффаров Х.З., Иванов А.В., Непоклонов Е.А. и др. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят/ Х.З. Гаффаров, А.В. Иванов, Е.А. Непоклонов, А.З. Равилов. – Казань, 2002, 592 с.

2. Глотов А.Г. Планирование программ вакцинации при вирусных респираторных болезнях крупного рогатого скота/ А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, А. В. Нефедченко, В.А. Качанов, Ю.Н. Зайцев// Рекомендации РАСХН, Сиб.- отд-ние, ГНУ ИЭВС и ДВ. – Новосибирск, 2006. – 36с.

3. Жидков, С.А. Вирусная диарея крупного рогатого скота/ С.А. Жидков. – Ветеринария, №3, 1989. – С.41-42.

4. Орлянкин, Б.Г., Парвовирусные инфекции и их влияние на продуктивность животных / Б.Г. Орлянкин, В.А. Сергеев, С.П. Качанова // ВНИИТЭИСХ, М., 1985. – С.33-35.;

5. Moreno-Lopez I. A serosurvey of viruses during outbreaks of acute respiratory and /or enteritis disease in Swedish cattle. /I. Moreno-Lopez// Zbl. vet. med Reihe B. – 1979, 26, 8, p. 634-640.

6. Думова В.В., Мищенко В.А., Мищенко А.В., Киселев М.Ю., Черных О.Ю. Распространение вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота у жвачных животных. – Краснодар. – Ветеринария Кубани, № 3, 2012. – с. 16-18.

Контактная информации об авторах для переписки

Х.З. Гаффаров, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией вирусологии ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, г. Казань, Научный городок д.3, кв.,42.

А.В. Иванов, доктор биологических наук, профессор, директор ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Научный городок, 2, тел./факс: (843) 239-71-73, 239-71-33, e-mail: vnivi@mail.ru

М.А. Ефимова, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусологии ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, г. Казань, Научный городок д.3, кв.,57, Телефон мобильный: 89053770771, e-mail: marina-2004r@mail.ru

Л.Ш. Дуплева, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории вирусологии ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,

А.И. Яруллин, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусологии ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,

О.В. Москвичев, аспирант лаборатории вирусологии ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»